Результаты исследований.

Установили, что температура тела у лошадей подопытной и контрольной групп варьировала в пределах 37,6–38,4° С, пульс — 32–39 ударов в минуту, дыхание 10–13 вдохов в минуту. Полученные результаты свидетельствуют о том, что показатели клинического состояния животных подопытной группы, получавших антигельминтную пасту в дозе 1 г/100 кг были в пределах физиологической нормы лошадей и существенно не отличались от их исходного клинического состояния и от состояния животных контрольной группы.

В результате исследований установили, что количество эритроцитов и лейкоцитов в 1 мкл крови, содержании гемоглобина и показатели лейкоцитарной формулы лошадей 1 и 2-й групп в течение всего периода исследований находились в пределах физиологической нормы и практически не отличались от показателей животных контрольной группы.

При исследовании биохимических показателей сыворотки крови нами также не установлено существенных достоверных изменений во всех исследуемых показателях (общего белка, альбуминов, альфа-, бета- и гаммаглобулинов) у животных контрольной и подопытной групп.

Таким образом, по результатам исследований антигельминтная паста «Алезан» в терапевтической дозе 1 г/100 кг не оказывает отрицательного влияния на клиническое состояние лошадей, гематологические и биохимические показатели крови.

Резюме
В статье приводится оценка влияния антигельминтной пасты «Алезан» на организм лошадей спонтанно зараженных кишечными нематодозами. Установлено, что в терапевтической дозе 1 г/100 кг препарат не оказывает отрицательного влияния на клиническое состояние лошадей, гематологические и биохимические показатели крови.

SUMMARY
Anthelmintic paste «AIezan» was tested at dose level of 1 g/100 kg of body weight against intestinal nematodes by horses.

Литература

1. Архипов, И.А. Изыскание новых препаратов для терапии гельминтозов животных / И.А. Архипов //Материалы докладов научн. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». М. Выпуск 5. 2004. С.32-35
2. Кузьминов, Д.А. Эффективность ивермека при кишечных нематодозах лошадей/ Д.А. Кузьминов, В.А.Оробец // Актуальные проблемы инвазионной, инфекционной и незаразной патологии животных. Ставрополь, 2003. С.61-63.
3. Кленова, И.Ф. Ветеринарные препараты в России / И.Ф. Кленова, К.Л. Мальцев, Н.А. Яременко [и др.]. М.: Сельхозиздат, 2004. Т. 1. 464 с., Т. 2. 576 с.
4. Мальцев, К.Л. Лечение однокопытных при стронгилятозах / К.Л. Мальцев, Л.А. Бундина, Д.В. Гришин // Ветеринарная патология. 2005. №2. С. 73.
5. Понаморев, Н.М. Эффетивность антгельминтиков при нематодозах лошадей / Н.М. Понаморев, // Ветеринария 1997. № 10. С. 28-29

В.В. Напалкова, В.Е. Абрамов
ФГУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»

ИССЛЕДОВАНИЯ ОСТРОЙ И СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ СУСПЕНЗИИ ТРИКЛАБЕНДАЗОЛА

Введение

Успех борьбы с гельминтами животных во многом зависит от наличия антигельминтных средств, обладающих достаточно высокой эффективностью и безопасностью для жизни и здоровья животных и человека (Веселова Т.П., 1964, 1978).

В условиях постоянного повышения роли химических веществ в борьбе с гельминтозами, ввиду их потенциальной опасности для животных, человека и окружающей среды, одной из ключевых задач при внедрении и дальнейшем применении антигельминтных препаратов является их токсикологическая оценка.

Для обеспечения безопасности применения антигельминтных средств каждый предлагаемый препарат для ветеринарной практики подвергается всестороннему токсикологическому исследованию, одним из этапов которого является определение параметров острой токсичности и кумулятивного эффекта.

В настоящее время за рубежом при тре-

матодозах жвачных успешно применяются лекарственные средства на основе триклабендазола: 6-хлор - 5-(2,3-дихлорфенокси)-2-метилтиобензимидазол, который активен как против половозрелых, так и против ранних и поздних стадий развития неполовозрелых фасциол, что выгодно отличает его от других трематодоцидных средств. Механизм действия триклабендазола основан на угнетении активности фумаратредуктазы и микротубулярной функции трематод.

По данным ряда зарубежных исследователей, триклабендазол относится к малотоксичным соединениям: $ЛД_{50}$ при пероральном введении лабораторным животным составляет более 8000 мг/кг массы животного, обладает слабо выраженными кумулятивными свойствами, не оказывает эмбриотоксического и тератогенного действия (Dorchies P., Franc M., Ducos de Lahitte, 1983; Eckert J., Schneider G, 1984.).

После перорального введения животным триклабендазол легко всасывается в желудочно-кишечном тракте, проникает в большинство органов и тканей организма и биотрансформируется в печени с образованием сульфоксида, сульфона, кетона и 4-гидрокси-триклабендазола.

Опытами на овцах и козах с радиоактивными изотопами установлено, что при пероральном введении препарата в терапевтической дозе, максимальная концентрация триклабендазола и его метаболитов устанавливается в крови через 24-36 часов после введения, затем снижается в течение 10 суток. В молоке лактирующих коров концентрация указанных соединений достигает максимальных значений в течение первых суток и сохраняется, постепенно снижаясь, в течение 10 дней. Выделяется триклабендазол из организма в основном с фекалиями, частично с мочой (до 2%), а у лактирующих животных также с молоком (менее 1%).

В органах и тканях овец и коз остаточные количества триклабендазола и его метаболитов обнаруживаются на протяжении 28 суток, в молоке – 10 суток после однократного перорального введения препарата в терапевтической дозе.

За рубежом для дегельминтизации недойного крупного рогатого скота и овец препараты на основе триклабендазола используют в форме гранул, болюсов и суспензий для перорального применения. Препараты назначают индивидуально однократно из расчета по ДВ: крупному рогатому скоту в дозе 12 мг/кг, овцам – 10 мг/кг массы животного.

Учитывая немногочисленные данные о степени токсичности лекарственных средств на основе триклабендазола, в задачу наших исследований входило изучение на лабораторных животных острой и субхронической токсичности триклабендазола суспензии 5%.

1. Материал и методы

Для исследования были взяты образцы опытных серий триклабендазола суспензии 5% (далее триклабендазола), разработанной отечественными специалистами.

Исследования проводили в соответствии с рекомендациями Фармакологического Государственного комитета («Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», Москва, 2005) [4; 8].

Для изучения острой и субхронической токсичности исследуемого препарата использовали белых мышей обоего пола массой 19-21 г, которых готовили к опытам в соответствии с указаниями ОФС «испытание на токсичность» ГФ XI [2].

Мышей получали из питомника «Филиал Андреевка ГУ НЦ биомедицинских технологий РАМН». Животных содержали в виварии согласно санитарным правилам [5] и на стандартном рационе с использованием сухого брикетированного корма.

Перед введением препарата животных выдерживали на голодной диете в течение 6 часов.

При изучении острой токсичности устанавливали переносимые и токсические дозы, выявляли наиболее чувствительные к триклабендазолу органы и системы организма, характер и степень патологических изменений в них, обратимость вызываемых поражений.

Для установления параметров острой токсичности препарат вводили в желудок с помощью шприца с оливой в следующих дозах: 8000; 10000; 15000; 20000; 25000; 30000; 35000; 40000; 45000; 50000; 55000 и 60000 мг/кг. Препарат в дозах 50000; 55000 и 60000 мг/кг вводили в желудок дробно с интервалом 2 часа.

Каждую дозу препарата испытывали на 7 животных, контрольным мышам вводили воду в том же объеме.

Наблюдения за белыми мышами проводили в течение 14 суток после введения препарата (первые сутки наблюдение вели непрерывно), фиксируя общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, координации движений, тонус

Таблица 1.

Доза препарата, мг/кг	Количество животных в группе	Число животных	
		выжило	пало
8000	7	7	0
10000	7	6	1
15000	7	5	2
20000	7	4	3
25000	7	3	4
30000	7	3	4
35000	7	2	5
40000	7	1	6
45000	7	1	6
50000	7	1	6
55000	7	1	6
60000	7	0	7

Таблица 2.

LD_0 (мг/кг)	LD_{16} (мг/кг)	LD_{50} (мг/кг)	LD_{84} (мг/кг)	LD_{100} (мг/кг)
8000	11500	27000 (21865÷32135)	42500	60000

Таблица 3

Группа	Доза, часть от LD_{50} или (мг/кг/сутки)	Количество животных в группе
I	1/5 (5400)	10
II	1/10 (2700)	10
III	1/20 (1350)	10
IV	контроль (1% крахмальный клейстер)	10

скелетных мышц, реакцию на тактильные, звуковые и световые раздражители, частоту и глубину дыхательных движений, ритм сердечных сокращений, состояние кожно-волосяного покрова, окраску слизистых оболочек, положение хвоста, количество и консистенцию фекальных масс, частоту мочеиспускание и окраску мочи, потребление корма и воды. Регистрировали сроки развития интоксикации и гибели мышей, проводили макроскопическое исследований внутренних органов погибших животных (степень кровенаполнения, наличие кровоизлияний, изъязвлений слизистой оболочек и др.)

На основе полученных данных методами Кербера и Першина, Миллера и Тейнтера [1] рассчитывали значения параметров острой токсичности препарата: $ЛД_0$ (максимально-переносимая доза), $ЛД_{50}$ (среднесмертельная доза), а для установления доверительных границ средней смертельной дозы определяли $ЛД_{16}$ и $ЛД_{84}$ (Машковский М.Д., 1971), устанавливали терапевтическую широту и степень опасности препарата.

Исследования субхронической токсичности триклабендазола провели на 40 мышах, из которых сформировали 4 группы по 10 голов в каждой, с исходной массой 19–23 г. Препарат вводили животным ежедневно в течение 15 суток в дозах 1/5, 1/10 и 1/20 от $ЛД_{50}$, установленной в остром опыте

Животным контрольной группы ежедневно вводили 1% крахмальный клейстер в сравнимом объеме введения.

В процессе опыта ежедневно регистрировали массу мышей, выявляли наиболее чувствительные к триклабендазолу органы и системы организма, характер и степень и обратимость патологических изменений, отбирали пробы крови (с и без антикоагулята) для последующих гематологических и биохимических исследований. Биохимические исследования проводили на биохимическом анализаторе «Spekol 220/221» (Германия).

Через 15 суток животных убивали, внутренние органы взвешивали и определяли массовые коэффициенты.

Статистическую обработку данных проводили по Стьюденту-Фишеру с использованием t-критерия.

2. Результаты исследований

2.1. Результаты изучения острой токсичности триклабендазола суспензии 5% приведены в таблице 1.

Как следует из приведенных данных, при введении препарата в дозе 8000 мг/кг гибели животных не наблюдалось. Даль-

Таблица 4

Срок исследования, сутки	Группы			
	1/5 от LD_{50} (5400 мг/кг)	1/10 от LD_{50} (2700 мг/кг)	1/20 от LD_{50} (1350 мг/кг)	контроль
0	20,2±0,25	21,3±0,15	22,5±0,16	23,3±0,37
3	20,9±0,23	22,7±0,30	23,90±0,31	24,7±0,26
5	21,3±0,15	23,8±0,25	24,4±0,22	25,5±0,34
7	21,8±0,20	24,9±0,28	25,8±0,39	26,9±0,38
10	22,1±0,23	25,6±0,22	26,4±0,31	27,7±0,37
15	22,6±0,16	26,0±0,26	27,7±0,37	28,7±0,26
% к исходной массе	112	122	123	123

Таблица 5

Орган	Группы			
	1/5 от LD_{50} (5400 мг/кг)	1/10 от LD_{50} (2700 мг/кг)	1/20 от LD_{50} (1350 мг/кг)	контроль
Печень	57,47±0,84	54,72±2,16	59,14±1,70	58,49±3,02
Почки	13,43±0,88	11,23±0,46	12,18±0,52	11,78±0,31
Сердце	4,44±0,17	4,28±0,13	4,71±0,13	4,66±0,10
Легкие	8,99±0,22	8,07±0,38	7,90±0,49	8,25±0,40
Селезенка	5,56±0,18	5,65±0,20	5,54±0,20	5,77±0,41

Таблица 6

Показатели		Группы			
		1/5 от LD_{50} (5400 мг/кг)	1/10 от LD_{50} (2700 мг/кг)	1/20 от LD_{50} (1350 мг/кг)	контроль
Гемоглобин, г/л		142,80±2,17*	141,1±2,08*	152,50±1,84	153,3±3,13
Эритроциты, 10^{12}/л		8,80±0,09	8,73±0,12	8,71±0,22	8,53±0,10
Тромбоциты, 10^{9}/л		273,10±9,76	279,6±6,77	323,00±10,06	290,80±10,07
Лейкоциты, 10^{9}/л		6,89±0,38	7,10±0,06	7,46±0,16	7,50±0,15
Лейкограмма, %	Сегментоядерные	32,20±0,65*	27,10±1,48	30,00±1,98	32,30±2,62
	Моноциты	2,30±0,26*	2,70±0,42	3,60±0,40	3,50±2,17
	Эозинофилы	2,00±0,26*	1,40±0,27	1,20±0,20	1,20±0,13
	Лимфоциты	62,60±0,70*	68,80±1,30	65,20±2,00	63,00±2,53

*Различие по данному показателю статистически достоверно между опытной и контрольной группами (P≤0,05).

нейшее повышение дозы приводило к гибели определенной части мышей в опытных группах. Доза препарата 60000 мг/кг была абсолютно смертельной.

При введении препарата в интервале доз 10000–60000 мг/кг у животных отмечали отказ от корма, угнетение, учащенное дыхание, нарушение двигательной активности. Сроки появления и выраженность указанных симптомов зависели от вводимой дозы. Так, при введении препарата в дозах 10000–30000 мг/кг признаки отравления появлялись примерно через 2-3 часа, в то время как в дозах 35000–60000 мг/кг уже через 30-60 минут. Основная гибель животных наблюдалась течение 1-2 суток после введения препарата.

На основе полученных данных были рассчитаны параметры острого токсического действия триклабендазола суспензии 5%: LD_{50}, рассчитанная по методу Кербера составила 27000±2429 мг/кг массы животного.

В таблице 2 приведены параметры острого токсического действия препарата, рассчитанные с использованием метода Першина, Миллера и Тейнтера.

Как следует из приведенных данных, значения LD_{50}, рассчитанные двумя методами, практически совпадают. Согласно гигиенической классификации ГОСТ 12.1.007-76 триклабендазола суспензия 5 % по степени воздействия на организм относится к 4 классу опасности – «вещества малоопасные»

2.2. Для оценки кумулятивного эф-

Таблица 7.

Показатели	Группы			
	1/5 от LD_{50} (5400 мг/кг)	1/10 от LD_{50} (2700 мг/кг)	1/20 от LD_{50} (1350 мг/кг)	контроль
Белок, мг/мл	56,30±0,29	55,10± 0,36	54,70±0,11	55, 50 ± 0,34
Щелочная фосфатаза, Е/л	10,42±0,09	10,18±0,23	10,04±0,15	9,73 ± 0,25
Холестерин, мг/дл	117,50±0,31	115,10±0,46	114,80±0,62	116,40±0,42
Аспартатаминотрансфераза, Ед/л	40,70±0,85	41,00±0,90	40,23±0,41	38,50±0,50
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	41,60±0,77	39,30±0,38	38,90±0,54	39,50±0,32
Креатинин, мкмоль/л	106,2±0,89	107,8±1,21	107,10±1,25	109,50±1,45

фекта триклабендазола суспензию 5% вводили животным опытных групп ежедневно в течение 15 дней, в дозах, указанных в таблице 3.

При введении суспензии в трех тестируемых дозах общее состояние и поведение животных, видимые физиологические функции оставались без изменений.

В таблице 4 представлена динамика прироста массы тела мышей трех опытных и контрольной групп.

Из данных таблицы следует, что введение триклабендазола в дозе 1/5 от LD_{50} приводило к замедлению динамики прироста массы животного, процент прироста массы тела к исходной составил 112% по сравнению со 123% в контроле. В то же время при введении препарата в более низких дозах - 1/10 и 1/20 от LD_{50} динамика прироста массы тела практически не отличалась динамики в контрольной группе.

Значения массовых коэффициентов внутренних органов мышей после перорального введения триклабендазола суспензии 5% приведены в таблице 5.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что значения массовых коэффициентов сердца, легких, печени, почек и селезенки у мышей трех опытных и контрольной группы достоверно не отличаются друг от друга. В частности, массовый коэффициент для печени у мышей, которым препарат вводили в дозах 1/5; 1/10 и 1/20 от LD_{50}, составил соответственно 57,47±0,84; 54,72±2,16 и 59,14±1,70 (в контроле - 58,49±3,02); для почек соответственно 13,43±0,88; 11,23±0,46 и 12,18±0,52 (в контроле 11,78±0,31); для легких соответственно 8,99±0,22; 8,07±0,38 и 7,90±0,49 (в контроле 8,25±0,40)

Результаты исследования гематологических показателей представлены в таблице 6.

При введении препарата в дозах 1/5 и 1/10 от LD_{50}, имело место незначительное снижение концентрации гемоглобина, а в дозе 1/5 от LD_{50} — появление в лейкограмме палочкоядерных нейтрофилов. Остальные тестированные показатели (количество эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, цветовой показатель, СОЭ) не претерпели достоверных изменений.

Многократное введение суспензии в течение 15 суток в дозе 1/20 от LD_{50} не оказало достоверного влияния на все тестированные гематологические показатели. В частности, уровень гемоглобина, количество эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов и СОЭ составили соответственно 152,5±1,84; 8,71±0,22; 323,0±10,06; 7,46±0,16 и 1,50±0,17 против 153,3±3,13 (г/л); 8,53±0,10 (10^2/л); 290,8±10,07 (10^9/л); 7,50±0,15 (10^9/л) и 1,50±0,17 (мм/ч).

В таблице 7 представлены результаты определения биохимических показателей сыворотки крови мышей после введения триклабендазола суспензии 5% в трех дозах в сравнении с контрольными животными.

Как следует из представленных данных, введение препарата в испытанных дозах не оказало достоверного влияния на концентрацию белка, холестерина, креатинина, а также активность аспартат- и аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы – ферментов, активность которых является показателем функционального состояния печени и почек .

Выводы

1. Триклабендазола суспензия 5% по параметрам острой токсичности согласно ГОСТ 12.1.007-76 относится к веществам малоопасным (4 класс опасности): $ЛД_{50}$ для белых мышей составила 27000±2429 мг/кг массы животного.

2. Триклабендазола суспензия 5% в субхроническом эксперименте при преоральном введении в дозах 1/5, 1/10 и 1/20 от $ЛД_{50}$, установленной в остром опыте, гибели подопытных мышей не вызывала.

3. При пероральном введении белым мышам триклабендазола суспензии 5% в течение 15 суток в дозе равной 1/5 от LD_{50}

(5400 мг/кг/сутки) выявлено замедление динамики прироста массы тела подопытных животных и изменение гематологических показателей.

4. При пероральном введении белым мышам триклабендазола суспензии 5% в течение 15 суток в дозе равной 1/10 от LD_{50} (2700 мг/кг/сутки) выявлено незначительное снижения концентрации гемоглобина в крови подопытных животных; доза суспензии триклабендазола 2700 мг/кг/сутки является пороговой.

5. При пероральном введении суспензии в течение 15 суток в дозе равной 1/20 от LD_{50} (1350 мг/кг/сутки) отклонений в клиническом состоянии, гематологических и биохимических показателях подопытных животных не выявлено; доза суспензии 1350 мг/кг/сутки является недействующей.

Заключение. Триклабендазола суспензия 5% согласно ГОСТ 12.1.007-76 относится к веществам малоопасным и обладает слабо выраженными кумулятивными свойствами.

Литература

1. Веселова Т.П. К вопросу сравнительной токсичности антгельминтиков.// Материалы науч. конф. ВОГМ.,1964, ч.1, с. 58-60.
2. Веселова Т.П. Проблемы фармакологии и токсикологии антгельминтиков, применяемых в ветеринарии.//Животноводство и ветеринария.Паразитарные заболевания.М., 1978, т. 10, с. 92-108.
3. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности / ГОСТ 12.1.007-76. М.: Издательство стандартов, 1984, с. 2.
4. Демидов Н.В Гельминтозы животных. М. Агропромиздат, 1978.
5. Положение о порядке экспертизы, испытания и регистрации ветеринарных препаратов в Российской Федерации. Москва, 1995, С.12.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Ремедиум, 2000, с. 18-24.
7. Dorchies P., Franc M., Ducos de Lahitte J. Etude de llactivite du triclabendazole (DCI) sur Fasciola hepatica chez l1agneau.//Revue de Medecine Veterinaire, 1983, V. 134, N4, P.231-234.
8. Eckert J., Schneider G., Wolff K. Fasinex (triclabendazole)- a new fasciolicide //Berl und Munch. Tierarztliche Wschr.- Schr., 1984, V.97, N10, P.349-356.

Д.Д. Новиков

Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия

ФАРМАКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА АМИТ ФОРТЕ

Введение. Фирмой ООО «НВЦ Агроветзащита» создан комплексный акарицидный препарат амит форте. Препарат существенно отличается от препаратов-аналогов имеющихся в данный момент на рынке препаратов ветеринарного назначения. В состав препарата вошли компоненты различных фармакологических групп, научно обоснованное сочетание которых является залогом эффективной терапии арахнозов плотоядных животных. Целью настоящей работы было изучение фармакотоксикологических свойств препарата амит форте.

Материалы и методы. Оценку фармакотоксикологических свойств препарата амит форте проводили согласно Методическим указаниям из «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», М, 2000, с. 18-33.

Изучение острой токсичности препарата проводили на 36 белых беспородных мышах массой 18 – 20 г. Препарат в чистом виде насильно вводился в желудок с помощью металлического зонда. Было испытано 6 доз. Каждая доза вводилась 6 животным. Контрольным животным вводили воду. Наблюдения за экспериментальными животными после однократного введения проводили в течение 14 дней, после многократного - в течение 2 месяцев.

Подострую токсичность препарата проводили на белых крысах, при этом исследовали гематологические и биохимические показатели: количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева; гемоглобин определяли гемометром Сали; мазки красили по Романовскому – Гимза; определение холинэстеразы проводили по методу Хестрина; активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови определяли по методу Боданского; общий белок в сыворотке крови определяли на